

Autoradiographische Untersuchungen
zur kurzzeitigen Zellmarkierung sowie
Polarität und Ausmass der individuellen
Zellwanderung bei *Hydra attenuata* (Pall.)

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

ERLANGUNG DER PHILOSOPHISCHEN DOKTORWÜRDE

vorgelegt der

PHILOSOPHISCHEN FAKULTÄT II
DER UNIVERSITÄT ZÜRICH

von

Gabriel VÖGELI

aus Linthal

Begutachtet von

Herrn Prof. Dr. P. TARDENT
Zürich 1970

GENÈVE
IMPRIMERIE KUNDIG
1972

1973



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Autoradiographische Untersuchungen
zur kurzzeitigen Zellmarkierung sowie
Polarität und Ausmass der individuellen
Zellwanderung bei *Hydra attenuata* (Pall.)

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

ERLANGUNG DER PHILOSOPHISCHEN DOKTORWÜRDE

vorgelegt der

PHILOSOPHISCHEN FAKULTÄT II
DER UNIVERSITÄT ZÜRICH

von

Gabriel VÖGELI

aus Linthal

Begutachtet von

Herrn Prof. Dr. P. TARDENT
Zürich 1970

GENÈVE

IMPRIMERIE KUNDIG
1972

Separatabdruck aus *Revue Suisse de Zoologie*
Bd. 79, Heft 2, Jahr 1972

CURRICULUM VITAE

Als Bürger von Linthal (Gl) wurde ich, Gabriel Vögeli, am 6. Oktober 1941 in Wattwil (SG) geboren. Die Primarschule besuchte ich in Wattwil von 1948 bis 1951, anschliessend bis 1954 in Bäretswil, wo ich auch die Sekundarschule von 1954 bis 1957 absolvierte. Von 1957 bis 1961 war ich Schüler der Kantonsschule von Wetzikon, wo ich 1961 die Maturitätsprüfung Typus C bestand. 1961 immatrikulierte ich mich an der Philosophischen Fakultät II der Universität Zürich mit dem Hauptfach Zoologie und den Nebenfächern Botanik, Organische Chemie und dem propädeutischen Fach Mathematik.

Ich besuchte Vorlesungen und Kurse folgender Herren Professoren und Dozenten: Bachofen, Berg, Biegert, Bovey, Burla, Chen, Daumer, Dreiding, Eugster, Gessner, Hadorn, Hegetschweiler, Henking, Humbel, Hunsperger, Johanssen, Leuthardt, Ludwig, Markgraf, Meyer, Nöthiger, Peissel, Pfeiffer, Pfister, Roweder, Rutishauser, Sauter, Schächli, Schmid, Schulz, Schumacher, Semenza, Staub, Stüssi, Tardent, Töndury, Viscontini, V. D. Waerden, Wagner, Wanner, Woodtli, Ziswiler.

Von 1965 bis 1970 führte ich unter der Leitung von Prof. Dr. P. Tardent meine Doktorarbeit aus.



Autoradiographische Untersuchungen zur kurzzeitigen Zellmarkierung sowie Polarität und Ausmass der individuellen Zellwanderung bei *Hydra attenuata* (Pall.)

von

Gabriel VÖGELI

Zoologisch-Vergleichend-Anatomisches Institut der Universität Zürich

Mit 9 Textabbildungen und 3 Tabellen

1. EINLEITUNG ¹

Die Hydrozoa und insbesondere die sich vegetativ vermehrenden Einzelpolypen und Polypenkolonien nehmen, was die Wachstumsprozesse anbelangt, unter den Metazoen eine Sonderstellung ein. Grösse und Gestalt des Individuums oder der Kolonie sind das Resultat ununterbrochener Erneuerungsprozesse, die regional auftretende Zellverluste durch mitotische Vorgänge kompensieren. Diese morphogenetische Plastizität, die bis ins sogenannte Adultstadium erhalten bleibt, bildet die Voraussetzung für das fast uneingeschränkte Regenerationsvermögen (TARDENT, 1960) und die somatische Unsterblichkeit (BRIEN, 1949) dieser Organismen. BRIEN (1949) hat als erster darauf aufmerksam gemacht, dass in der Süswasserhydra eine sogenannte „Bildungsregion“ tätig sein muss, die materiellen Ersatz für die in der Tentakelregion und im Bereich der Fussdrüse auftretenden Zellverluste leistet. Nach BRIEN (1949) muss diese Bildungszone, in der eine

¹ Meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. P. TARDENT danke ich herzlich für die Leitung und Förderung dieser Arbeit.

intensive Zellvermehrung postuliert werden muss, in der subtentakulären Region des Rumpfes liegen. Von dort aus werden die Zellen einerseits in Richtung Tentakel, anderseits entlang der Rumpfsäule gegen die Basis des Polypen verschoben. Diese Verschiebungen ektodermaler und entodermaler Zellverbände im Rumpfbereich sind mit Hilfe radioaktiver Zellmarkierungen demonstriert worden (CAMPBELL, 1967b). Das Phänomen als solches ist unbestritten, aber es gibt noch eine Reihe ungelöster Probleme im Zusammenhang mit den Faktoren, die diesen Zellfluss in Gang setzen und in Gang halten. Genauere Untersuchungen über die Regionalität der Mitoseaktivität haben nämlich gezeigt (CAMPBELL, 1967b; TARDENT, persönliche Mitteilung), dass die sich proliferativ vermehrenden Zellen nicht auf die von BRIEN (1949) postulierte subtentakuläre Region beschränkt sind. Die mitotische Zellvermehrung im Ektoderm und Entoderm findet in gleichem Ausmass entlang des ganzen Rumpfes statt. Deshalb soll nicht mehr von einer regional begrenzten Bildungszone gesprochen werden. TARDENT und MORGENTHALER (1966) haben ausserdem gezeigt, dass im Ektoderm des Rumpfes von *Hydra* eine umfangreiche gegenläufige Wanderung von Zellen (I-Zellen, Nematozyten) stattfindet. Diese Verlagerungen beruhen, im Gegensatz zu der oben erwähnten disto-proximalen Gewebeverschiebung, auf individuellen Zellwanderungen in den Interzellularräumen, die von den Epithelmuskelzellen des Ektoderms gebildet werden. Nach TARDENT und MORGENTHALER (1966) erfolgen diese Wanderungen vorwiegend in proximo-distaler Richtung.

Damit ist das relativ einfache von BRIEN (1949) postulierte dynamische Modell mit zwei neuen Parametern belastet, die nach einer genaueren Abklärung verlangen.

Eine erste Aufgabe dieser Arbeit ist die Überprüfung des axialen Verteilungsmusters der Mitosen im Rumpfektoderm von *Hydra*. Dabei wurde die von CAMPBELL (1965) verwendete Methode der ^3H -Thymidin-Inkorporation übernommen, wobei allerdings die autoradiographische Untersuchung der markierten Polypen nicht erst 24 h nach erfolgter ^3H -Thymidin Injektion, sondern kurzfristig durchgeführt wurde. Damit sollte weitgehend verhindert werden, dass markierte Zellen noch vor der autoradiographischen Untersuchung wandern und dadurch das Bild des Mitose-Verteilungsmusters verfälschen. Wie TARDENT und MORGENTHALER (1966) nämlich gezeigt haben, können Nematozyten oder I-Zellen innerhalb von 6 Stunden die halbe Länge der Rumpfsäule durchwandern.

Die zweite Aufgabe der vorliegenden Arbeit besteht darin, das Ausmass und die Polarität dieser individuellen Zellwanderungen im Ektoderm von *Hydra* genauer zu analysieren, wobei zur Lösung dieser Aufgabe eine Kombination von radioaktiver Markierung und Transplantation verwendet wurde.

2. MATERIAL UND METHODE

Die der Art *Hydra attenuata* (Pall.) angehörenden Versuchstiere stammen aus dem männlichen Klon 4 der Institutszuchten (TARDENT, 1968). Sie wurden in Subkulturen (Standardschalen, Durchmesser 10 cm, Höhe 5,5 cm) bei 18° C einem 12 h Hell-Dunkel-Wechsel ausgesetzt und 3 mal wöchentlich mit lebendem Seep plankton (Copepoda, Cladocera) gefüttert. Das Zuchtwasser (LOOMIS, 1956) wurde täglich erneuert und die Polypen wurden in Abständen von 14 Tagen in neue Standardschalen umgesetzt. Nach erfolgter ³H-Thymidin-Injektion respektive nach Transplantation wurden die Versuchstiere einzeln in Halbrundschalen (20 ml) gehalten. Die für die Versuche ausgewählten Tiere wurden jeweils 6 Tage vor Versuchsbeginn das letzte Mal gefüttert. Mit Ausnahme der Spenderpolypen wurde allen Tieren während der ganzen Versuchsperiode kein weiteres Futter verabreicht.

Das ³H-Thymidin¹ wurde nach den Angaben von CAMPBELL (1965) durch die Mundöffnung in den Gastralraum frisch gefütterter Spenderpolypen injiziert. Diese Injektion muss unmittelbar nach einer Fütterung erfolgen, da nur so die injizierte Flüssigkeitsmenge nicht sofort wieder ausgestossen wird, sondern mit dem Futter zusammen ca 10 h im Gastralraum verweilt. Die von BAUMANN (1969) entwickelte Injektionsapparatur wurde so modifiziert, dass mit Hilfe einer von Hand betätigten Schraube 0,1 µl langsam injiziert werden konnte.

Zur Transplantation wurden die markierten Spender- und die unmarkierten Wirtspolypen 1 (n = 2), 3 (n = 3 × 4), 5 (n = 2) und 7 (n = 2) Tage nach der Injektion der Spender unter dem Binokular mit einem Mikroskalpell in die gewünschten Axialfragmente (Abb. 3 und 6) zerlegt. Gleichzeitig wurden auch den Wirtspolypen die distalen Tentakelabschnitte entfernt, um eine Nachfrage nach Nematocyten zu erzeugen. Die genaue Anordnung der verschiedenen Axialfragmente wird bei den entsprechenden Experimenten beschrieben. Die Fragmente wurden in gewünschter Reihenfolge und Polaritätsanordnung auf einer feinen Glasnadel aufgereiht. Mit kleinen Gelatineplättchen, die zuletzt von beiden Seiten her auf die Glasnadel geschoben wurden, konnte ein Auseinanderweichen der Fragmente verhindert und eine rasche Verwachsung erzielt werden. Ca 1 Stunde nach erfolgter Transplantation war die Verwachsung der Fragmente soweit fortgeschritten, dass die Chimären von den Glasnadeln geschoben werden konnten. Die aus verschiedenen Axialfragmenten zusammengesetzten Tiere verhielten sich von diesem Zeitpunkt an ganz normal. Die ³H-Thymidin-Inkorporation, respektive

¹ New England Nuclear Corp. Boston. 0,1 mM, spez. Aktivität 6,7 c/mM, Thymidin-methyl-³H.

die in Chimären ablaufende Wanderung markierter Zellen wurde durch Fixation mit Carnoy unterbrochen.

Die autoradiographische Verarbeitung der Schnittpräparate erfolgte nach den Angaben von ROGERS (1967). Die Querschnittserien ($4\ \mu$) wurden entparaffiniert, mit Alkohol entwässert, luftgetrocknet und anschliessend in photographische Emulsion (K2, Ilford, England) eingetaucht. Die Emulsion wurde im Verhältnis 1 : 1 mit Aqua dest. — Glycerin verdünnt. Die Präparate wurden bei Zimmertemperatur unter dem Luftstrom eines Ventilators getrocknet und dann während 10 Tagen bei 4°C exponiert. Sie wurden anschliessend mit DK 12 (Kodak) während 5 min bei 20°C entwickelt, mit Hämalun gefärbt, nach dem Eintauchen in eine 2% Polyvinylalkohollösung (in 50% Äthylalkohol gelöst; ROGERS, mündliche Mitteilung) an der Luft getrocknet und dann mit Malinol (Fluka AG) zugedeckt.

Die mikroskopische Auswertung der Autoradiogramme wurde mit einem Objektiv 50 (Fluotar, Wild) durchgeführt. Eine Zelle wurde dann als markiert angesprochen, wenn über ihrem Kern mindestens 10 Silbergranula gezählt werden konnten. Von einigen Ausnahmen abgesehen (z.B. 5 min — Tiere der Kurzzeitversuche, Abb. 1) war die Zahl der über den markierten Kernen auftretenden Silbergranula zwischen 50—200, bei einem Background von 0—3 Granula über der gleichen Fläche. Da wegen der geringen Reichweite der ^3H -Strahlung $4\ \mu$ dicke Schnitte hergestellt wurden, trat durchschnittlich jeder Zellkern auf 2 Schnitten auf. Um alle gewanderten Zellen im unmarkierten Wirt zu erfassen, wurde daher nur jeder 2. Querschnitt (d.h. 50% aller Schnitte) mikroskopisch untersucht. Bei der Auswertung der markierten Hydren (Kurzzeitversuche) und der markierten Spenderviertel wurde nur jeder 10. Schnitt (d.h. 10% aller Schnitte) ausgewertet. Diese Anzahl markierter Zellen wurde mit dem Faktor 5 multipliziert, um sie mit der Anzahl markierter Zellen der unmarkierten Wirte vergleichen zu können.

Wegen der geringen Schnittdicke war es oft schwer, die verschiedenen Zelltypen festzustellen. Im Ektoderm liessen sich die Epithelmuskelzellen (EMZ) auf Grund ihrer Grösse gut von allen andern Zelltypen unterscheiden. Die übrigen Zellen des Ektoderms wurden unter der Bezeichnung „Nicht-Epithelmuskelzellen“ zusammengefasst. Es handelt sich dabei um interstitielle Zellen (I-Zellen), Nematoblasten und Nematocyten. Im Entoderm wurde nicht zwischen verschiedenen Zelltypen unterschieden.

Bei den Kurzzeitversuchen wurden die ausgewerteten Querschnitte zu insgesamt 10 Axialniveaus (Abb. 1, 1—10) zusammengefasst. Die Schnitte, welche Hypostom und Tentakelkranz umfassen, bilden eine Region (0) für sich. So konnten die markierten Hydren trotz ihrer unterschiedlichen Kontraktion im Moment der Fixation (300—700 Querschnitte) zusammengefasst und verglichen werden.

Bei den Chimären konnte das markierte Spenderstück mit 50—100 Querschnitten auf Grund der schwachen Plasmamarkierung relativ gut von den un-

markierten Wirtsteilen mit 200—400 Querschnitten unterschieden werden. Ein Problem stellte die unterschiedliche Grösse der verschiedenen Spenderviertel. Diese Grösse schwankt, bedingt durch den momentanen Kontraktionszustand des Spenders während der Vierteilung vor der Transplantation. Die Anzahl Schnitte (Länge in mm) konnte nicht als Grössenmass verwendet werden, da die 4 Hydren, die die Regionen I—IV eines Spenders enthielten, im Moment der Fixation zusätzlich noch unterschiedlich kontrahiert waren. Daher wurden in der mittleren Region jedes Spenderviertels alle Zellen in 2 Schnitten ausgezählt. Auf Grund der Anzahl Querschnitte pro Implantat konnte eine „Gesamtzahl“ der Zellen berechnet werden. So wurde als Grösse eines Spenderviertels die Anzahl EMZ angenommen; diese Werte schwanken zwischen 300—1300 EMZ. Um die Anzahl der aus einem Viertel ausgewanderten Zellen zwischen den verschiedenen Spenderstücken vergleichen zu können, wurde die Anzahl markierter Zellen (mit Ausnahme der Abb. 6 und 9 und Tab. 3) immer auf eine einheitliche Spendergrösse von 1000 EMZ pro Viertel bezogen.

3. RESULTATE

3.1. KURZFRISTIGE INKORPORATION VON ^3H -THYMIN

CAMPBELL (1967a) hat für *Hydra littoralis* das räumliche Verteilungsmuster markierter Zellen 24 h nach der Injektion von ^3H -Thymidin beschrieben. Hier soll untersucht werden, ob dieses Verteilungsmuster der räumlichen Anordnung replizierender Kerne entspricht, oder ob diese durch rasche migratorische Verlagerung markierter Zellen (TARDENT und MORGENTHALER, 1966) in diesen 24 h bereits verfälscht werden konnte. Diese Untersuchungen über die kurzfristige Inkorporation von ^3H -Thymidin bilden auch die Grundlage für die später zu beschreibenden Versuche (Seite 657) über Ausmass und Polarität der Zellwanderung. Bei je 5 normalen Polypen wurde in deren Rumpfbereich die axiale Verteilung der markierten Zellen 5', 30', 120', 480' nach Injektion von ^3H -Thymidin untersucht.

In Abbildungen 1 und 2 sind die Resultate dieser Auszählung graphisch dargestellt (für Angaben über Auswertung der Autoradiogramme, siehe Seite 652). Sie zeigen, dass schon 5 min nach der Injektion im Hypostombereich und auch in den anderen Axialniveaus des Rumpfes markierte Kerne auftreten. Allgemein enthält das Ektoderm 5 min nach Injektion absolut (Abb. 1) und prozentual (Tab. 1) mehr markierte Zellen als das Entoderm. Eine Ausnahme bildet nur die Hypostomregion (0), in der die markierten Kerne im Entoderm zahlenmässig überwiegen. In den Tentakeln treten zu diesem Zeitpunkt noch keine markierten Zellkerne auf. Im Entoderm der Stielabschnitte (Niveaus 9 und 10) fehlen markierte Zellen ganz.

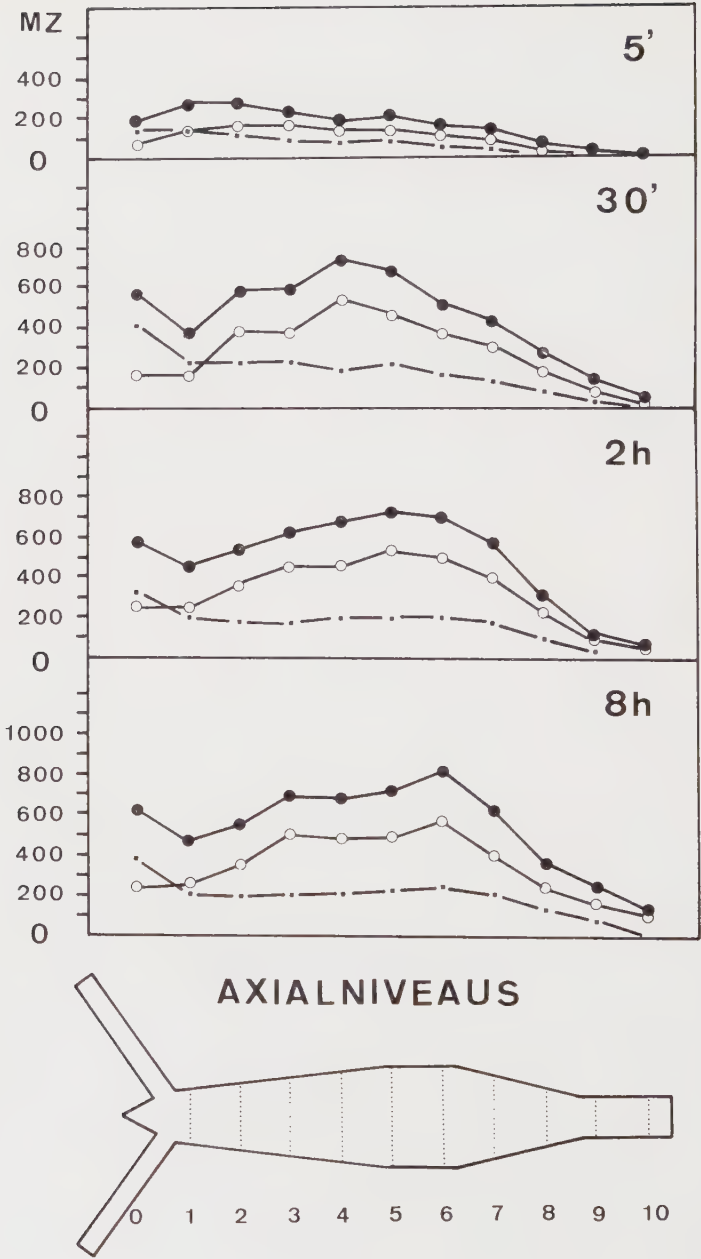


ABB. 1.

Die axiale Verteilung radioaktiv markierter Zellen, verschiedene Zeiten nach Beginn der ^3H -Thymidin Injektion.

- MZ: Anzahl markierter Zellen pro Axialniveau
○ — ○ Markierte Zellen im Ektoderm
■ — ■ Markierte Zellen im Entoderm
● — ● Total markierte Zellen

30 min nach Injektion hat sich das Verteilungsmuster der markierten Zellen (Abb. 1) deutlich verändert. Auffallend ist die starke Zunahme der markierten Zellen im Ektoderm des mittleren Rumpfbereiches (Niveau 3—8). Während in den hypostomnahen Regionen sich die Zahl der markierten Zellen gegenüber der vorhergegangenen Serie nicht wesentlich verändert hat. In der mittleren Rumpfregion (Niveau 5) haben prozentual (Tab. 1) mehr Zellen ^3H -Thymidin inkorporiert als in den distalen (Niveau 1) oder proximalen (Niveau 9) Regionen. In diesen Regionen zeichnet sich das Entoderm im Vergleich zum Ektoderm durch seinen relativ hohen Gehalt an markierten Kernen aus. Abbildung 2 gibt die Anzahl markierter Zellen wieder, wie sie gesamthaft nach der angegebenen Zeit in einer *Hydra* durchschnittlich auftreten. Die totale Zahl der markierten Zellen steigt besonders stark während der ersten 30 min nach der Injektion an.

TABELLE 1

Prozentualer Anteil der markierten Zellen im Ektoderm und Entoderm verschiedener Axialregionen von Hydra attenuata (Pull.) nach verschiedenen Markierungsintervallen.

Inkorporations- dauer (min)	Subhypostomale Region Niveau 1 (%)		Mittlere Region Niveau 5 (%)		Fuss- Region Niveau 9 (%)		Total (%)	
	Ekt.	Ent.	Ekt.	Ent.	Ekt.	Ent.	Ekt.	Ent.
0— 5'	4,6	4,0	3,0	1,9	0,6	0,0	2,8	2,0
0— 30'	10,5	19,6	13,1	17,6	4,9	6,5	9,5	14,6
0—120'	15,9	20,5	20,8	22,1	8,3	9,6	15,0	17,4
0—480'	14,5	18,7	22,1	22,1	19,9	19,5	16,2	19,4

Bei einer Verlängerung der Inkorporationszeit auf 2 respektive 8 h erfährt das axiale Verteilungsmuster der markierten Kerne sowohl in qualitativer, wie auch in quantitativer Hinsicht keine wesentliche Änderung mehr. Die Kurve des totalen Einbaus (Abb. 2) flacht sich in dieser Zeit merklich ab, d.h. es kommt zu einer Verlangsamung des ^3H -Thymidineinbaus.

Interessant ist, dass während der Untersuchungsperiode im Entoderm des Hypostoms (Abb. 1, Niveau 0) immer mehr Zellen markiert sind als im Ektoderm. In den Tentakeln treten keine markierten Zellen auf. Aus Abbildung 2 geht weiter hervor, dass das Verhältnis zwischen der Anzahl markierter Zellen im Ektoderm und im Entoderm während den 8 h konstant bleibt. Im Ektoderm stellen die Nicht-EMZ, d.h. die interstitiellen Zellen und die Nematoblasten, unter den markierten Elementen den Hauptanteil dar (Tab. 2).

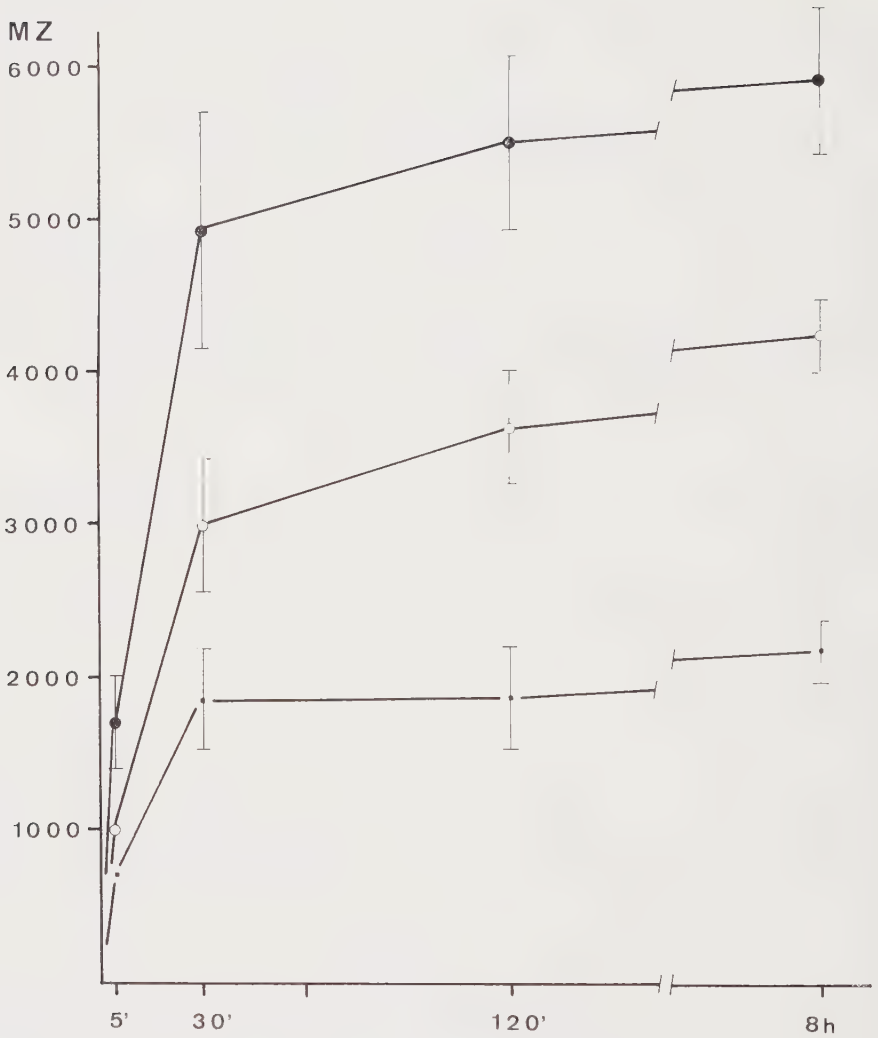


ABB. 2.

Gesamtzahl markierter Zellen pro Hydra, verschiedene Zeiten
nach Beginn der ^3H -Thymidin Injektion ¹

- MZ: Anzahl markierte Zellen
- — ○ Markierte Zellen des Ektoderms
 - — ■ Markierte Zellen des Entoderms
 - — ● Total markierte Zellen

¹ Mit Standardabweichung des Mittelwertes

TABELLE 2

Prozentualer Anteil markierter EMZ und Nicht-EMZ des Ektoderms von *Hydra attenuata* (Pall.) (100% = alle markierten Zellen des Ektoderms)

Zelltyp	Inkorporationszeit			
	0—5 min	0—30 min	0—120 min	0—480 min
EMZ	5,8%	7,7%	9,8%	8,3%
Nicht-EMZ	94,2%	92,3%	90,2%	91,7%

3.2. POLARITÄT UND AUSMASS DER INDIVIDUELLEN WANDERUNG NICHT EPITHELIALER ZELLEN

3.2.1. Versuchsanordnung

Die in Abbildungen 3, 4 und 6 dargestellten Versuchsanordnungen wurden entwickelt, um die Polarität und das Ausmass der individuellen Zellwanderung zu untersuchen. Für die Transplantation (Abb. 3) wurden die Spender in 4 gleich-lange Axialabschnitte (I—IV) zerlegt. Jeder dieser Abschnitte wurde zwischen die

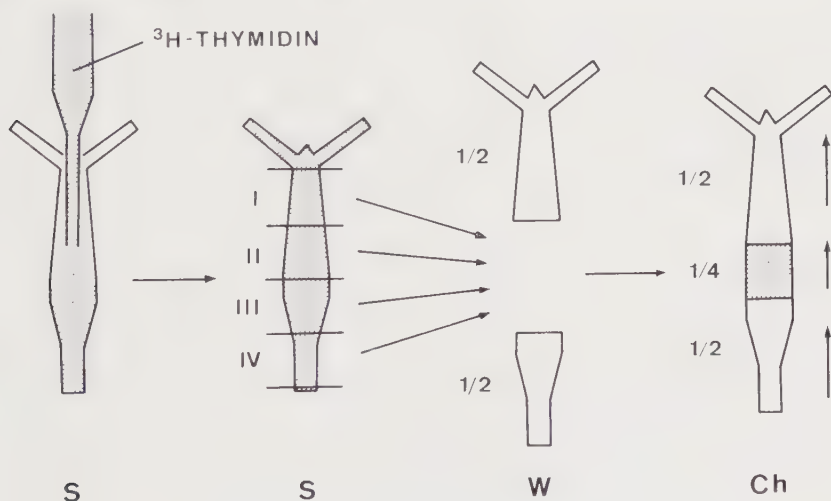


ABB. 3.

Transplantationsschema

S: Spender, unmittelbar nach Fütterung erfolgt ^3H -Thymidin Injektion.

W: unmarkierter Wirt

Ch: Chimäre, Pfeile geben die Axialpolarität an.

1/4, 1/2: Rumpflänge des Spenders, resp. des Wirtes

I—IV: Axialregionen des Spenders

distale und proximale Hälfte einer zuvor zweigeteilten Wirtshydra implantiert. Die abgeänderte Versuchsanordnung der Abbildung 6 wird später beschrieben. Die 4 resultierenden Chimären, bei denen die ursprünglichen Polaritätsverhältnisse beibehalten wurden, enthalten somit je ein markiertes Spenderstück aus den 4 verschiedenen Axialniveaus (I—IV) einer markierten Spenderhydra. Diese Chimären wurden 1 respektive 2 Tage (Abb. 4) nach der Transplantation autoradiographisch auf die axiale Verteilung radioaktiv markierter Zellen hin untersucht.

In diesen Versuchen (Abb. 3 und 4) traten folgende Variablen auf:

1. Die Zeitspanne zwischen der radioaktiven Markierung der Spenderpolypen und der Transplantation.
2. Der Zeitraum zwischen der letzten Fütterung der Wirtspolypen und der Transplantation.

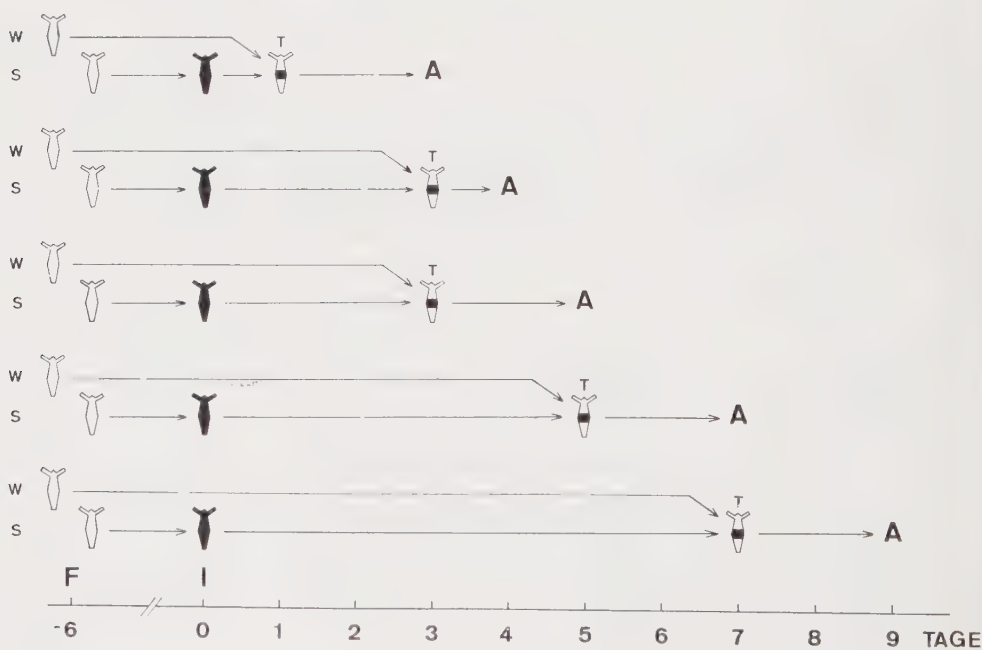


ABB. 4.

Zeitlicher Verlauf der Transplantationsexperimente.

A: Autoradiographische Untersuchung der Chimären

F: Letzte Fütterung aller Polypen vor Versuchsbeginn

I: Injektion von ^3H -Thymidin unmittelbar nach Fütterung der Spender

S: Spenderpolypen

T: Transplantation (Siehe Abb. 3)

Tag: Zeit nach der Injektion von ^3H -Thymidin in die Spenderpolypen.

(Für die Parabioseperiode vom 2.—3. Tag, 6.—7. Tag und 8.—9. Tag ist $n = 2$, für alle anderen Perioden ist $n = 4$.)

3. Der Zeitraum zwischen der Transplantation und der autoradiographischen Auswertung der Chimären (Parabiosedauer).
4. Die axiale Herkunft (I—IV) der implantierten Spenderstücke.

Da Punkt 1 und 4 in den Versuchsserien genau analysiert werden, müssen hier kurz die Variablen 2 und 3 erörtert werden. Die variablen Hungerperioden (F-T), denen die Wirtspolypen ausgesetzt waren, dürfen vernachlässigt werden. Wie später gezeigt werden soll (Seite 665), ist eine Beeinflussung der Wanderung durch den Wirt nach 7 Hungertagen als konstant zu betrachten.

Die Parabiosezeit wurde mit einer Ausnahme (1 Tag) auf 2 Tage konstant gehalten. Die Parabiosedauer wurde so kurz gewählt, um der Gefahr eines Verbrauchs markierter Zellen in den Tentakeln vorzubeugen. Ausserdem wirkt sich bei dieser kurzen Parabiosezeit die Gewebeverschiebung (BURNETT, 1960a; CAMPBELL, 1967b) kaum aus. Unsere Beobachtungen zeigen, dass die Verschiebung der Markierungsgrenzen zwischen Ektoderm und Entoderm innerhalb von 2 Tagen nicht mehr als 8—12 μ beträgt.

3.2.2. *Art der wandernden Zellen und Wanderungsraum*

Die autoradiographischen Untersuchungen lieferten bezüglich der Art der individuell wandernden Zellen folgende Resultate. Weder distal noch proximal vom markierten Implantat wurden je markierte ektodermale Epithelmuskelzellen oder Entodermzellen im unmarkierten Wirt angetroffen. Diese Zelltypen scheinen also nicht in der Lage zu sein, individuell zu wandern. Typische Wanderzellen sind, wie unsere Versuche gezeigt haben, die Nematocyten und etwas weniger häufig die I-Zellen. Da weder im Entoderm der unmarkierten Wirte noch im Gastralraum der Chimären markierte Zellen auftraten, kann die Möglichkeit passiver Ortsveränderung via Gastralraum im Rumpfbereich ausgeschlossen werden (vergleiche BURNETT, 1960b).

3.2.3. *Die Polarität der individuellen Wanderung*

Um abzuklären, ob für individuell wandernde nicht epitheliale Zellen bezüglich der Körperlängsachse eine Vorzugsrichtung besteht, wurden diejenigen Chimären herausgegriffen, deren markiertes Mittelstück aus dem Axialniveau III der Spenderpolypen stammten. Die Abbildung 5 gibt die Ergebnisse dieser Untersuchung wieder, alle Zahlen sind auf eine Implantatsgrösse von 1000 EMZ bezogen (siehe Seite 653).

Werden die beiden nicht markierten Wirtshälften einen Tag nach der ^3H -Thymidinmarkierung des Spenders mit diesen in Parabiose versetzt, so wandert in den zwei folgenden Tagen nur eine sehr geringe Zahl markierter Zellen aus dem Implantat in den Wirt (vergleiche Abb. 5, 2.—3. Tag). Diese ausgewanderten Zellen verteilen sich mehr oder weniger gleichmässig auf die distalen und proxi-

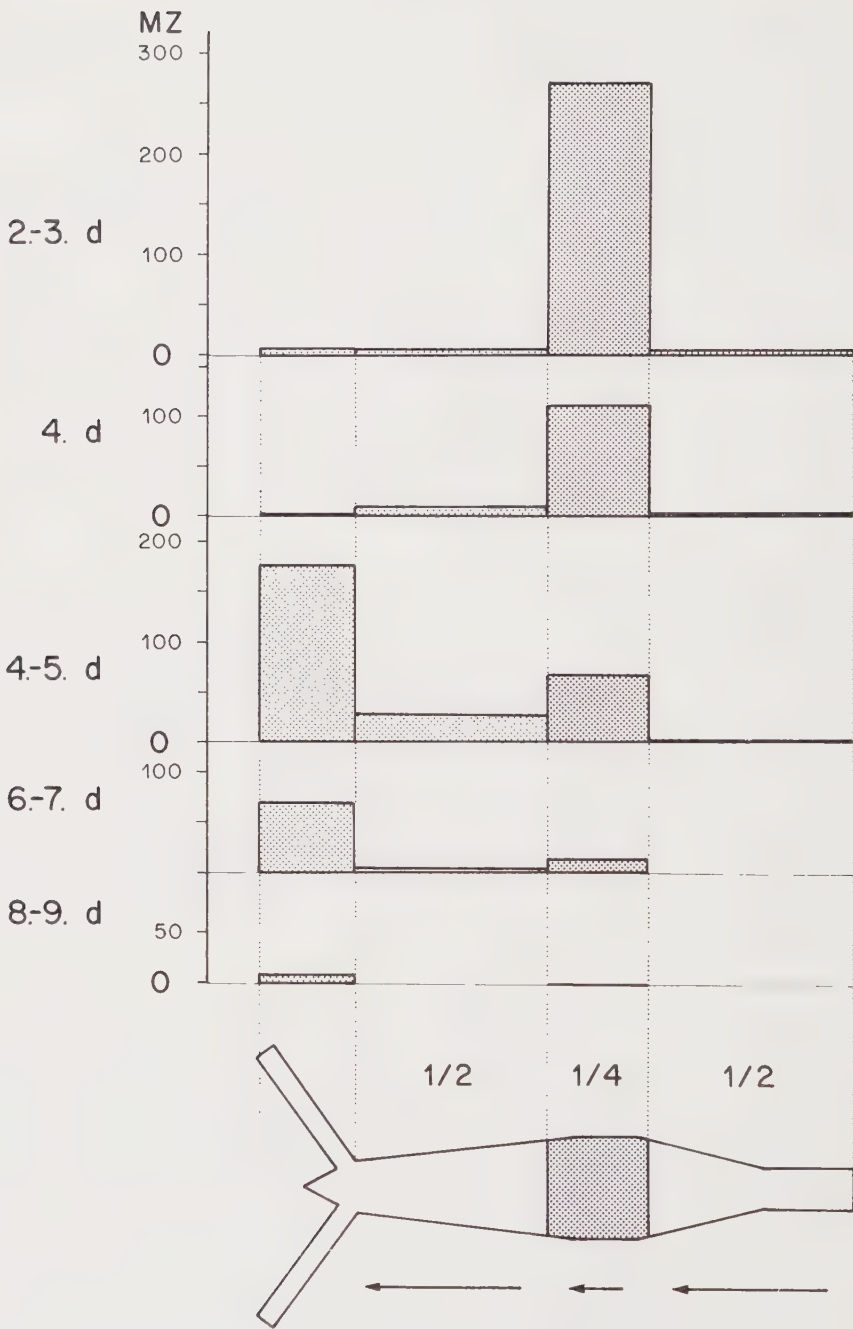


ABB. 5.

Die Vorzugsrichtung (Polarität) wandernder Zellen während den verschiedenen Parabioseperioden. (Die Verteilung der markierten Nicht-EMZ in den verschiedenen Regionen der Chimären, die das III Spenderviertel enthalten.)

MZ: Anzahl markierter Nicht-EMZ pro 1000 EMZ des Spenderviertels
Zeiten: Die Parabioseperioden werden in Tagen nach der Injektion von ³H-Thymidin in die Spenderpolypen angegeben (Siehe Abb. 4)

malen Wirtshälften. Die Wanderungsrichtung ist in dieser Phase noch nicht polarisiert.

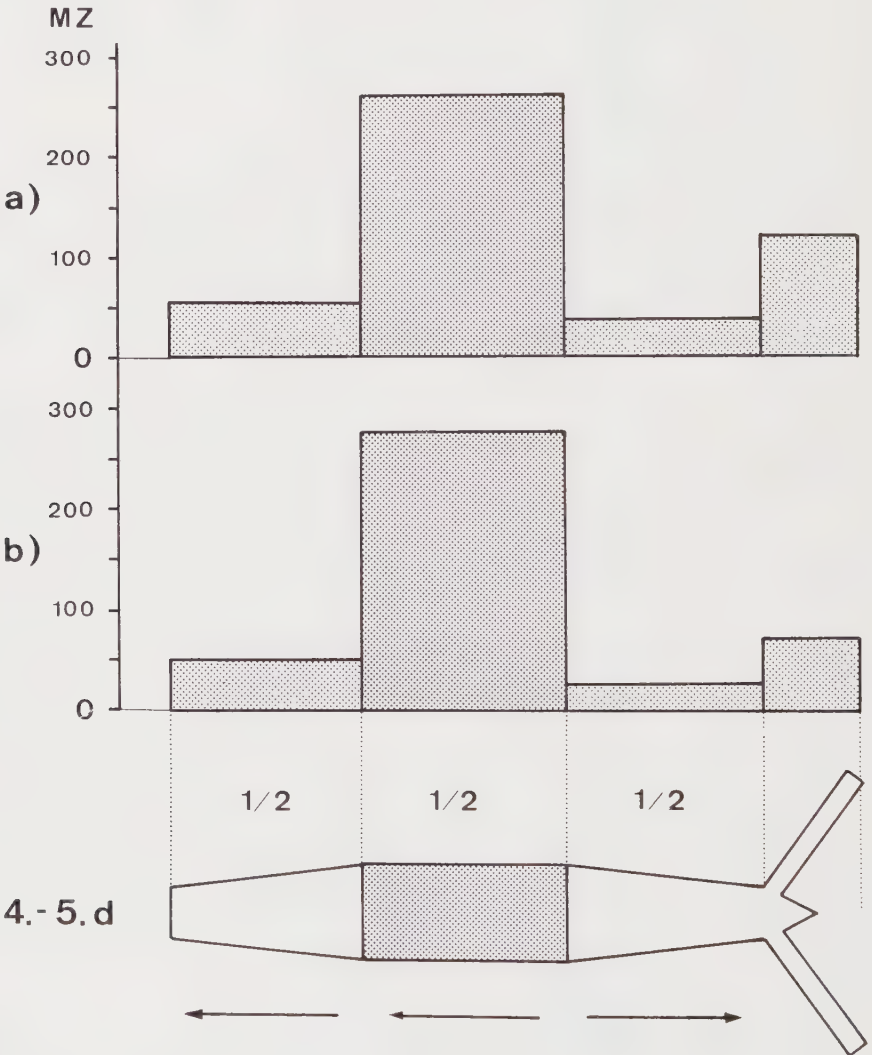
Dies ändert sich, wenn der markierte Spender 3 Tage auf die Transplantation wartet. Während den folgenden 2 Parabiosetagen zeichnet sich eine klare Vorzugsrichtung individuell wandernder Zellen ab (Abb. 5, 4.—5. Tag). 99% der aus dem Implantat ausgewanderten Zellen befinden sich nun in der distalen, nicht markierten Wirtshälfte. Die Serien, in denen die Zeitspanne zwischen Markierung und Parabiosebeginn noch mehr verlängert wurde (Abb. 5, 6.—7. und 8. —9. Tag), bestätigen diese Feststellung.

Zwei Serien (Abb. 5, 4. Tag und 4. — 5. Tag) wurden gleichzeitig, 3 Tage nach der Injektion von ^3H -Thymidin, in Parabiose versetzt. Beim Vergleich der Ergebnisse wird klar, dass die Polarisierung der Wanderung erst während des 5. Tages erfolgt. Bei den Zellen, die vom 5. Tag an gehäuft im Hypostom und den Tentakeln anzutreffen sind, handelt es sich ausschliesslich um Nematocyten. Wie zu erwarten ist, nimmt gleichzeitig die Zahl der markierten Zellen im ursprünglich markierten Mittelstück der Chimäre progressiv ab.

Um feststellen zu können, ob unbekannte, ausserhalb des Spenderstückes wirkende Faktoren für diese Polarisierung der Wanderungsrichtung verantwortlich sind, oder ob diese „in situ“ d.h. im Spenderstück selber festgelegt werden, wurde sowohl Grösse wie auch Polarität der zu einer Chimären vereinigten Spender- und Wirtstücke in der folgenden Weise modifiziert: In der neuen Versuchsserie (Abb. 6) entsprechen die ^3H -Thymidin markierten Implantate nicht mehr einem Viertel der Längsausdehnung des zerlegten Spenders, sondern stellen in einem Fall die distalen, im anderen die proximalen Rumpfhälften des Spenders ($n = 4$) dar. Diese Spenderhälften wurden 3 Tage nach der Injektion von ^3H -Thymidin zwischen zwei distale Hälften nicht markierter Wirtspolypen implantiert, wobei eine Wirtshälfte mit entgegengesetzter, die andere mit gleichsinniger Axialpolarität mit der Spenderhälfte zur Verwachsung gebracht wurde. Hypostom und Tentakel der Wirtshälfte, die mit dem Spender gleichsinnige Polarität aufwiesen, wurden unmittelbar vor der Transplantation amputiert, sodass die entstandenen Chimären nach der Operation die Gestalt normaler Polypen hatten. Diese Chimären wurden 2 Tage nach der Transplantation, d.h. 5 Tage nach der Markierung des Spenders in der gewohnten Weise auf die Verteilung markierter Kerne hin untersucht.

In Abbildung 6 sind neben der experimentellen Anordnung die Resultate dieser Serie wiedergegeben. Aus dem markierten Implantat, das die distale Spenderhälfte (Axialregion I und II, Abb. 6a) umfasst, wandern markierte Zellen in beiden Richtungen bezüglich der Axialpolarität des Implantates aus. Eine besonders grosse Zahl von markierten Wanderzellen häufen sich im Bereich des Hypostoms und der Tentakel derjenigen Wirtshälfte an, die mit dem Spenderstück entgegengesetzte Polarität aufweist. Im Rumpfbereich der Wirte dagegen verteilen sich die

ausgewanderten Zellen gleichmässig auf die dekapitierte und die intakte Hälfte. Das gleiche gilt auch für die Chimären (Abb. 6b), die als markiertes Implantat die proximale Hälfte (Axialniveau III und IV) der Spender enthalten.



Die Verteilung markierter Nicht-EMZ nach veränderten Polaritätsverhältnissen (Durch Pfeile angegeben) für die Parabioseperiode vom 4.—5. Tag nach der Markierung der Spender.
a.: Chimären mit der distalen Spenderhälfte
b.: Chimären mit der proximalen Spenderhälfte
MZ: Anzahl markierter Nicht-EMZ

Diese Befunde zeigen, dass die Wanderungsrichtung offenbar nicht schon im Spenderstück festgelegt wird, sondern, dass die Polarität des anstossenden Wirtsteils, mit oder ohne Hypostom respektive Tentakelkranz, die Polarität der Wanderungsrichtung in entscheidendem Mass bestimmt. In unipolar zusammengeführten Chimären (Abb. 5) ist die Vorzugsrichtung deutlich distal; werden die Wanderzellen des Implantates aber durch entgegengesetzte Polarität der Wirtsteile einer Konfliktsituation ausgesetzt (Abb. 6), so gibt es keine Vorzugsrichtung mehr.

3.2.4. *Die Verteilung der wanderungsfähigen Zellen auf die verschiedenen Axialniveaus*

Durch Verwendung von markierten Pfropfstücken aus verschiedenen Axialniveaus des Spenders wurde untersucht, ob Zellen aus verschiedenen Körperregionen unterschiedliche Wanderungseigenschaften besitzen. Abbildung 7 gibt die Verteilung markierter Zellen nach einer 2-tägigen Parabiose wieder, wobei verschiedene Spenderregionen (I—IV) als Implantat verwendet wurden. Die Transplantation erfolgte 3 Tage nach der Markierung der Spender.

Aus dieser Darstellung ist ersichtlich, dass die Zellwanderung in Chimären, deren Implantat aus der Axialregion I, II und III des Spenders stammt, identisch ist. Aus dem basalen Spenderviertel IV jedoch wanderte nur eine verhältnismässig kleine Zahl von Zellen in die unmarkierten Wirtsteile aus, obschon das Spenderstück selber relativ gut markiert war. Der Unterschied zwischen den Chimären mit Spenderstücken aus den Körperregionen I—III und denjenigen mit Spendervierteln aus der Basalregion IV trat in gleichem Mass auch dann auf, wenn das Intervall zwischen ^3H -Thymidininjektion und Beginn der Parabiose verlängert wurde.

Die Befunde zeigen, dass basale Körperabschnitte (IV) d.h. der Stielteil der Hydra in ihrem Ektoderm weniger wanderungsfähige Zellen aufweisen als die mittleren und distalen Rumpfbereiche (I—III).

3.2.5. *Zeitlicher Verlauf der Wanderung in Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Markierung*

Da von den wandernden Zellen des Ektoderms nur diejenigen erfasst werden können, deren Kerne vor der Transplantation ^3H -Thymidin inkorporiert hatten, stellt sich die Frage nach der Abhängigkeit der Wanderungsintensität von der zwischen Markierung und Transplantation eingeschalteten Zeitspanne. Diese wurde, wie Abbildung 4 zeigt, variiert, während die Dauer der Parabiose, d.h. das Intervall zwischen Transplantation und autoradiographischer Auswertung mit einer Ausnahme (4. Tag) stets 2 Tage betrug. Abbildung 8 gibt für die verschiedenen Zeitspannen zwischen Markierung und Transplantation die Gesamtzahl der aus den markierten Spenderstücken innert 2, respektive 1 Tag in die nicht markierten Wirtshälften ausgewanderten Zellen an. Die Zahlen sind, um die verschiedenen Viertel untereinander vergleichen zu können, auf eine einheitliche Spenderviertel-

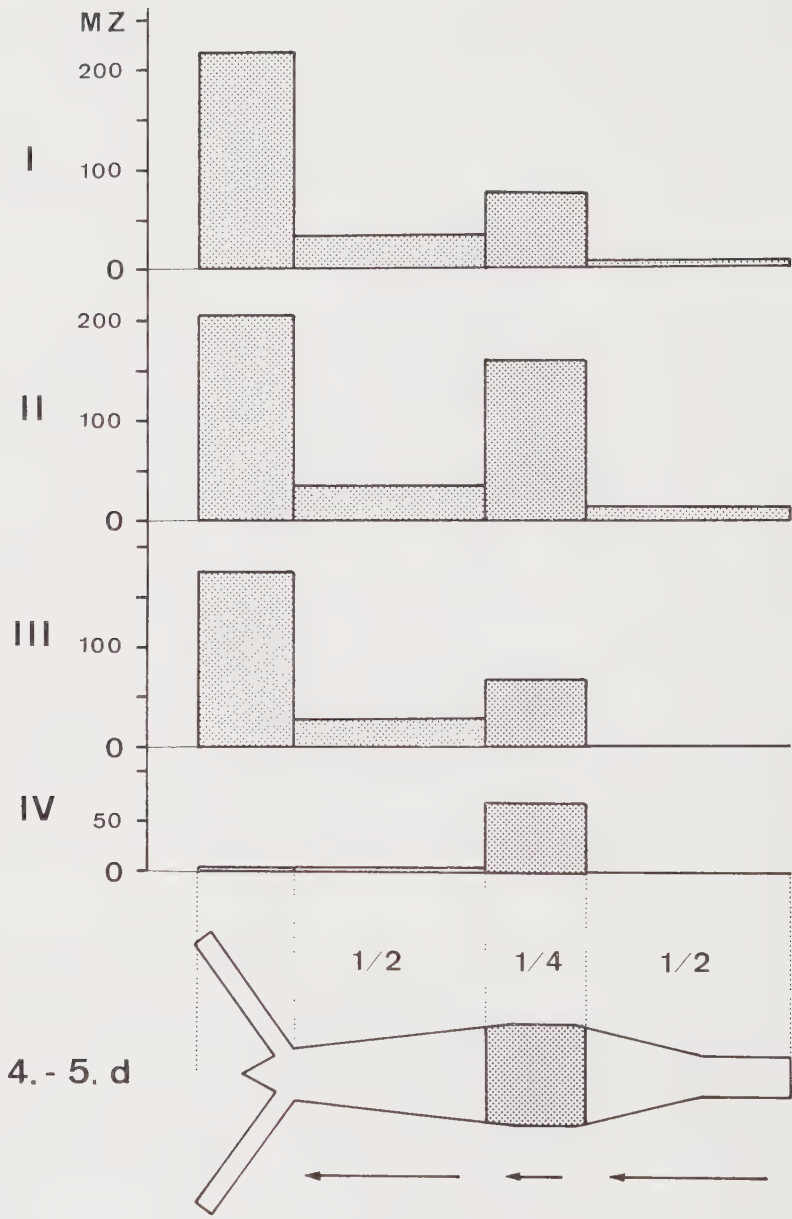


ABB. 7.

Der Einfluss des axialen Spenderniveaus (I—IV) auf die Verteilung der markierten Zellen in den Chimären. (Parabioseperiode 4.—5. Tag nach der Markierung der Spender.) MZ: Anzahl markierter Nicht-EMZ bezogen auf 1000 EMZ pro Spenderviertel.

grösse von 1000 EMZ bezogen. In Abbildung 5 wurde für das Axialniveau III bereits die Zahl ausgewanderter Zellen nach verschiedenen Zeitspannen zwischen Injektion und Transplantation bestimmt. Abbildung 7 zeigt die Verteilung wandernder Zellen für die Parabioseperiode vom 4. –5. Tag für alle Spenderviertel (I–IV).

Bei Chimären, die bis zum 4. Tag nach der ^3H -Thymidinmarkierung der Spender autoradiographisch untersucht wurden, wandern relativ wenig markierte Zellen in die nicht markierten Wirtshälften aus (Abb. 8, 2.—3. und 4. Tag). Auch

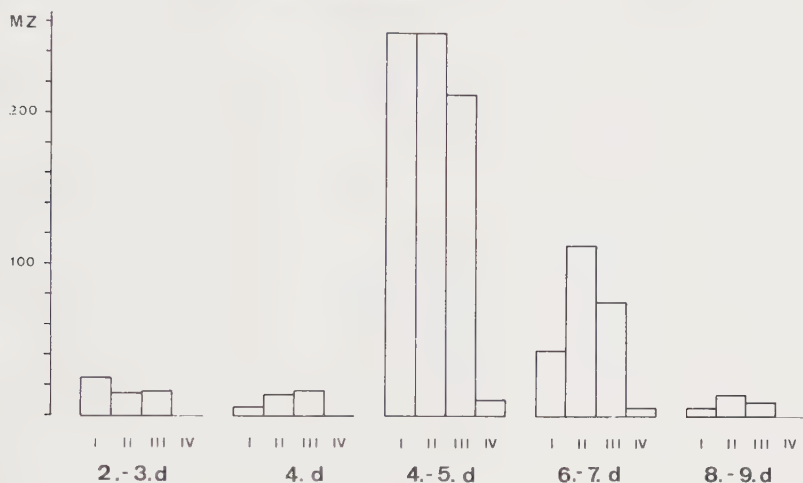


ABB. 8.

Die Anzahl markierter Nicht-EMZ, die während den verschiedenen Parabioseperioden aus den verschiedenen Axialregionen (I–IV) der Spender auswandern.

MZ: Anzahl markierter Nicht-EMZ bezogen auf 1000 EMZ pro Spenderviertel.
Zeiten: Siehe Abbildungen 4 und 5

hier verhalten sich die Spenderstücke I–III sehr ähnlich, während aus dem proximalen Spenderviertel (IV) noch keine Wanderung beobachtet werden konnte. Die höchste Zahl ausgewanderter Zellen konnte, wie Abbildung 8 (4.—5. Tag) zeigt, dann registriert werden, wenn die Zeitspanne zwischen Markierung des Spenders und Auswertung der Chimären (nach einer 2-tägigen Parabiose) 5 Tage dauerte. In diesem Fall verlassen Wanderzellen auch das basale Spenderviertel IV. Bei Verlängerung des erwähnten Intervalls (6.—7., respektive 8.—9. Tag) nimmt die Zahl der aus den Spendern ausgewanderten markierten Zellen wieder ab, obschon eine konstante Parabiosedauer von 2 Tagen eingehalten wurde. Während des 4. und 5. Tages verlassen das I. und II. Viertel gleichviele markierte Zellen pro 1000 Spender-EMZ, während am 6.—7. Tag aus dem I. Viertel mehr als die Hälfte weniger markierte Zellen auswandern als aus dem II. Viertel.

Abbildung 9 zeigt die regionale Verteilung markierter Zellen in den Chimären, die in verschiedenen Zeitabständen nach Markierung der Spender hergestellt worden waren. In dieser Darstellung wurden die Resultate der 4 Einzelindividuen (I—IV) zusammengefasst. Sie zeigt wiederum deutlich, dass die ausgewanderten Zellen das Spenderstück vorzugsweise in distaler Richtung verlassen (Abb. 9, D 1/2 und Hy) während eine nur geringe Zahl markierter Zellen in die proximale

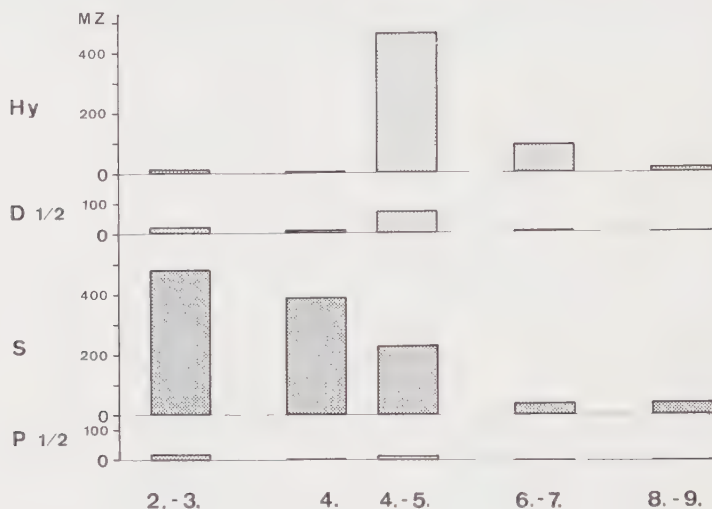


ABB. 9.

Das absolute Ausmass der individuellen Wanderung markierter Nicht-EMZ während den verschiedenen Parabioseperioden.

D 1/2: Distale Hälfte der Wirte

Hy: Hypostom der Wirte

MZ: Anzahl markierter Nicht-EMZ, ermittelt durch die Addition der entsprechenden Werte aus den 4 Chimären, die das Gewebe (I—IV) einer Spenderhydra enthalten.

P 1/2: Proximale Hälfte der Wirte

S: Spenderpolypen

Zeiten: Siehe Abbildungen 4 und 5

Wirtshälfte (Abb. 9, P 1/2) übergetreten sind. Während des 4. und 5. Tages erscheint der Hauptanteil der ausgewanderten Zellen im Hypostom und Tentakelbereich. Bei Vergrößerung des Intervalls (5.—7., respektive 7.—9. Tag) nimmt die Zahl der markierten Wanderzellen wieder ab.

In der Tabelle 3 sind die absoluten Zellzahlen für jede einzelne Spenderhydra angegeben. Die Anzahl EMZ verändert sich während den verschiedenen Markierungszeiten (Anzahl Tage nach der Injektion von ^3H -Thymidin) nur wenig. Die Anzahl Nicht-EMZ ist bis zum 4. Tag noch im Zunehmen begriffen. Nach dem 5. Tag sinkt diese Zahl sehr stark ab. Auch die Zellen des Entoderms sind ähnlichen Änderungen unterworfen.

TABELLE 3

*Absolute Zellzahlen am Ende der entsprechenden
Parabioseperiode in den Spendern und den Wirten*

Para- biose- Periode ¹	Spender						Wirt
	EMZ	mark.	Nicht- EMZ	mark.	Ent.	mark.	Nicht- EMZ mark.
2.—3. d	2322	30	7143	330	4819	894	38
	2689	40	8203	620	5873	348	47
4. d	3691	65	10636	327	16555	1713	19
	1402	5	4942	365	8829	1041	23
	2719	75	11056	490	16083	1733	19
	4438	30	11019	360	13574	975	10
4.—5. d	1876	90	4751	210	4493	479	364
	2784	48	9144	336	7607	818	720
	3125	33	4868	104	6692	713	553
	3903	96	5750	262	9058	1364	537
6.—7. d	2615	6	3857	42	5242	601	80
	1098	10	2408	30	2408	145	110
8.—9. d	2249	40	2625	60	3970	604	18
	1780	0	2191	25	3335	218	22

¹ Siehe Abbildungen 4 und 5

4. DISKUSSION

4.1. KURZFRISTIGE INKORPORATION VON ³H-THYMIDIN

Der kurzzeitige Einbau von ³H-Thymidin ist geeignet, diejenigen Zellen zu erfassen, die kurz vor einer Mitose stehen. Durch die Wahl der Zeitabstände, nach denen die Tiere autoradiographisch untersucht wurden, konnte die rasch ablaufende individuelle Wanderung (TARDENT und MORGENTHALER, 1966) dieser Zellen während der Versuchsdauer von 8 h ausgeschlossen werden.

Schon nach einer Inkorporationszeit von 5 min treten längs des ganzen Hydrenrumpfes (Abb. 1) markierte Zellen auf. Da das radioaktive Nukleosid über die Gastralhöhle an die Zellen herangebracht wurde (siehe Seite 651), war die Verteilung der markierten Zellen auf die beiden Gewebeschichten unerwartet (Abb. 1, 5 min; Tab. 1). Damit während der ersten 5 min prozentual mehr Ektodermzellen markiert sein können, muss das ³H-Thymidin nach der Injektion rasch

von den Entodermzellen aufgenommen und auf beide Gewebeschichten verteilt worden sein. Möglicherweise sind plasmatische Querverbindungen durch die Mesogloä hindurch, die das elektronenoptische Bild zeigt (TARDENT, mündliche Mitteilung), für diesen Transport verantwortlich. Dieser rasche Einbau radioaktiver Bausteine in die DNS steht in Übereinstimmung mit den Resultaten für andere Zellsysteme (Übersicht siehe CLEAVER, 1967).

Wenn die Inkorporation 30 min nach der Injektion unterbrochen wird, entspricht das Verteilungsmuster den Angaben, die CAMPBELL (1967a) für eine Inkorporationsdauer von 24 h gemacht hat, mit Ausnahme der Hypostomregion, wo nach 30 min mehr Entodermzellen markiert sind, als Ektodermzellen (Abb. 1, Niveau 0). Bei dieser Längsverteilung der markierten Zellen muss allerdings berücksichtigt werden, dass die Einteilung in axiale Abschnitte (1—10) auf Grund der Anzahl Schnitte erfolgt ist. Da während der ersten 30 min bis 1 h eine subhypostomale Konstriktion auftritt, kann dieser Kontraktionszustand während der Fixation die Resultate (mit Ausnahme der Ergebnisse der Tab. 1) beeinflussen.

Da während der ganzen Versuchsdauer von 8 h der Gastralraum mit Futterorganismen angefüllt ist (die Ausstossung erfolgt erst 10 h nach der Fütterung) wird unmarkiertes Thymidin aus dem Futter freigesetzt. Das kann dazu beitragen, dass sich die Kurve (Abb. 2) nach 30 min abflacht, während der starke Anstieg unmittelbar nach der Injektion darauf zurückzuführen ist, dass nur injiziertes ^3H -Thymidin zur Verfügung steht.

Dieses Verhalten der Zellen weist darauf hin, dass zwischen der Mitoseaktivität und der Fütterung ein Zusammenhang besteht. In diesem Sinn können auch die Resultate von CAMPBELL (1967a) gedeutet werden, wo er für steady-state Tiere eine Kopplung zwischen Fütterung und Mitose zeigen kann. Dass die ^3H -Thymidingabe allein keinen Einfluss auf den Beginn der DNS-Replikation hat, stellten BURNETT (1962) und KOLENKINE (1963) bereits fest. Ihre Ergebnisse lassen sich so interpretieren, dass bei hungernden Hydren nur sehr wenige Zellen in der S-Phase des Mitosezyklus sind.

Aus diesen Angaben darf geschlossen werden, dass der Futtergabe für die Auslösung der Zellteilung eine wichtige Bedeutung zukommt. Ob die Futtergabe nur die Realisation von Mitosen ermöglicht, die über andere Mechanismen induziert werden, oder ob das Futter selber Faktoren enthält, die in den Mitoseverlauf eingreifen können, bleibt späteren Untersuchungen vorbehalten. Wie in Abbildung 1 gezeigt wurde, tritt während der 8 h Versuchsdauer keine Verschiebung markierter Zellen auf; dieses Ergebnis wird gestützt durch den Befund (Abb. 9), dass die individuelle Wanderung markierter Zellen erst 4 Tage nach der Injektion von ^3H -Thymidin möglich ist. Die Verteilung der Mitosen längs einer Hydra ist für steady-state Tiere (CAMPBELL, 1967a) die gleiche wie für Hungertiere (Abb. 1).

4.2. DIE WANDERUNG INDIVIDUELLER ZELLEN

BRIEN (1949) und BURNETT (1960a) haben in der Gewebeverschiebung Erneuerungsprozesse aufgezeigt, die dafür verantwortlich sind, dass die an den Körperenden auftretenden Zellverluste kompensiert werden. CAMPBELL (1967b) hat die Mechanismen dieser Gewebeverschiebung, die auf einem Zelnachschub längs der ganzen *Hydra* beruhen, richtiggestellt. Neben dieser Verschiebung ganzer Gewebe wurde schon früher (HADZI, 1909) die individuelle Wanderung von Nesselzellen postuliert. Diese individuelle Wanderung wurde angenommen, da die Tentakel nach der Futteraufnahme und dem damit verbundenen Verlust von Nesselzellen ihre Funktionstüchtigkeit wieder erlangen. Da gut gefütterte Hydren oft Nesselzellen im Gastralraum aufweisen, wurde als Wanderungsweg immer der Gastralraum angegeben (BURNETT, 1960b). Durch direkte Beobachtung am lebenden Tier (TARDENT und EYMANN, 1959) und die Befunde (Seite 659), dass nie markierte Zellen im Entoderm des Wirtes oder im Gastralraum der Chimären angetroffen wurden, steht fest, dass Zellen, die in den Tentakeln zum Einsatz kommen, nur über die interstitiellen Räume des Rumpf-Ektoderms in die Tentakelbasis wandern. Dort werden diese Nesselzellen in die Ektodermzellen „aufgenommen“ und wandern, wie CAMPBELL (1967c) gezeigt hat, mit der normalen Gewebeverschiebung distal, wo sie bei steady-state Tieren nach ca 4 Tagen die Tentakelspitze erreichen und abgestossen werden. Damit im Zusammenhang steht auch die Beobachtung (VÖGELI, unveröffentlicht), dass das Entfernen distaler Tentakelteile der Wirtspolypen (Seite 651) keinen Einfluss auf das Wanderungsverhalten individueller Spenderzellen hat.

Im Gegensatz zu den Untersuchungen, die schon über die individuelle Zellwanderung durchgeführt wurden (TARDENT und MORGENTHALER, 1966; CAMPBELL, 1967c), implantierten wir alle axialen Niveaus eines Spenders in die gleiche mittlere Wirtsregion (Abb. 3). Die Experimente wurden zeitlich so angelegt (Abb. 4), dass man an der Anzahl markierter Zellen, die im Wirt angetroffen wurden, ablesen konnte, wieviele Zellen innert der gegebenen Zeitspanne in einem Spenderviertel wanderungsfähig wurden. Es ist nicht anzunehmen, dass durch weiterlaufen des Einbaus von ^3H -Thymin nach der Transplantation eine Wanderung vorgetäuscht wird, denn das noch im Gastralraum vorhandene ^3H -Thymin wird mit den unverdaulichen Futterresten ca 10 h nach der Fütterung ausgestossen.

Dass während den ersten 4 Tagen nach der Injektion von ^3H -Thymin nur wenige markierte Zellen im Wirt anzutreffen sind, beruht darauf, dass für die Differenzierung der Nesselzellen und das Erreichen der Wanderungsfähigkeit 4 Tage (bei 18° C) verstreichen; diese Zeitspanne wird auch von RICH und TARDENT (1969) für die Differenzierung von Nesselzellen angenommen. Bei den vor dem 5. Tag wandernden Zellen handelt es sich vorwiegend um Zellen, die un-

polarisiert im Wirt umherirren. Während des 5. Tages nach der Injektion tritt eine massive polarisierte Wanderung von markierten Nesselzellen auf. Diese Aussagen gelten nur für die markierten Zellen, die während den ersten Stunden (Abb. 2) nach Injektion ^3H -Thymidin eingebaut haben. Dieser Einbau muss bei vielen Zellen im gleichen Differenzierungsstadium erfolgt sein. Möglicherweise ist das gewählte Standardisierungsverfahren für eine Synchronisation der Zelldifferenzierung verantwortlich.

Während am Ende aller Parabioseperioden im Entoderm eine Markierung von ca 10% der Zellen anzutreffen ist (Tab. 3), zeigt das Ektoderm am Ende des 4. Tages eine Markierung von ca 6%. Der Abfall der Markierung von 20% bei den Kurzzeitversuchen (Tab. 1), auf 6–10% bei den Wanderungsversuchen weist auf einen Aktivitätsverlust des ^3H -Thymidins hin. Neben diesen markierten Zellen wandert eine gewisse Anzahl unmarkierter Zellen, die aus dem Futter nicht radioaktives Thymidin erhalten haben. Ob sich diese Zellen gleich verhalten, wie die markierten, lässt sich nicht feststellen. Nimmt man aber an, dass der Zellverlust der Spender, der zwischen dem 5. und dem 7. Tag 2995 Nicht-EMZ beträgt (Tab. 3) auf Zellwanderung beruht (die Anzahl der EMZ bleibt annähernd konstant), so darf man annehmen, dass pro markierte Zelle 30 unmarkierte Nicht-EMZ wandern, zwischen dem 7. und dem 9. Tag ergeben sich 36 unmarkierte Nicht-EMZ pro markierte wandernde Zelle. Nach dieser groben Schätzung sind während des 5. Tages 10 000 bis 20 000 Zellen auf der Wanderung. Dass sich die Anzahl wanderungsfähiger Nematocyten im Rumpfektoderm in dieser Grössenordnung bewegt, zeigen Zellzählungen der verschiedenen Zelltypen (Tab. 3; siehe auch SANYAL, 1962).

Bei einer so massiven Zellwanderung, die innert der kurzen Zeit in den interstitiellen Räumen des Ektoderms ablaufen muss, werden sich die wandernden Zellen gegenseitig beeinflussen. Wichtig ist dabei, dass in den unmarkierten Wirtshydrn nach 7 Hungertagen diese Wanderung bereits abgelaufen ist, und in den folgenden Tagen (Abb. 9, 8.—9. Tag) nur noch wenige Zellen im Rumpfektoderm der Wirte wanderungsfähig werden. Der hungernde Wirt kann also die Anzahl der wandernden Spenderzellen nicht mehr beeinflussen. Welchen Einfluss frisch gefütterte Wirte auf die Wanderung markierter Spenderzellen nehmen, müsste durch ergänzende Untersuchungen ermittelt werden.

Anders verhält es sich mit der individuellen Zellwanderung während der Zeit, da die Spender auf die Transplantation warten. Bei dieser in situ Wanderung markierter Zellen in das eigene Spenderhypostom und Tentakel werden die Zellen proximaler Viertel (II und III) zurückgestaut (Abb. 8, 6.—7. Tag). Möglicherweise lässt sich die Wanderungspolarität mit der gegenseitigen Beeinflussung der Zellen während der Wanderung erklären. Bei normalen Polaritätsverhältnissen (Abb. 5) werden die wandernden Nesselzellen in den Tentakeln akkumuliert; damit werden sie aus den darunterliegenden interstitiellen Räumen des Wirtes entfernt, und ein

weiteres Nachwandern von Zellen aus dem Spenderstück ist möglich. Nach veränderten Polaritätsverhältnissen (Abb. 6) wird das amputierte Wirtsstück rasch mit Nesselzellen überfüllt, während das Wirtsstück mit einer Tentakelregion mehr Zellen akkumuliert, obwohl die Zellen in der Spenderhälfte (I und II oder III und IV) zuerst in der entgegengesetzten Richtung wandern müssen.

Auf Grund der vorliegenden Ergebnisse müssen wir annehmen, dass die axiale Polarität des Gewebes, in der die Wanderung stattfindet, keinen Einfluss auf die Wanderungsrichtung hat. Es dürfte viel mehr so sein, dass die Platzverhältnisse in den interstitiellen Räumen den Zellen eine Wanderungsrichtung aufzwingen. Die Wanderungsrichtung ist gegen ein Hypostom hin polarisiert, weil in den Tentakeln die Nesselzellen aus den weiter proximal liegenden Wanderungsräumen des Ektoderms entfernt werden, was ein Nachströmen der Zellen ermöglicht. Ob und wie stark andere Faktoren (siehe z.B. BURNETT, 1966) die Wanderungsrichtung beeinflussen können, kann mit den vorliegenden Ergebnissen nicht beantwortet werden.

Während der ganzen Untersuchung wurden die Chimären von über 150 Spenderhydren autoradiographisch untersucht. Es wurde dabei nie ein Resultat gefunden, das mit der hier gegebenen Auswahl von Chimären im Widerspruch steht.

ZUSAMMENFASSUNG

1. Es wird der Einbau von ^3H -Thymidin in die Zellkerne von *Hydra attenuata* (Pall.) während kurzen Zeitintervallen untersucht.
2. Nach einer 6 tägigen Hungerperiode wird unmittelbar nach der Fütterung ^3H -Thymidin in den Gastralraum injiziert. Ausgelöst oder ermöglicht durch die Futtergabe beginnen viele Zellen zum gleichen Zeitpunkt mit der Replikation ihrer Erbsubstanz.
3. Da schon 5 min nach der Injektion markierte Zellen längs des ganzen Rumpfes auftreten, kann eine Verfälschung der axialen Mitoseverteilung durch individuelle Wanderung markierter Zellen ausgeschlossen werden.
4. Die Methode der radioaktiven Markierung wird mit derjenigen der Transplantation kombiniert um als Differenzierungsleistung der Nicht-EMZ (Nematocyten, I-Zellen, eventuell Nervenzellen) die individuelle Wanderungsfähigkeit zu untersuchen.
5. Nach der Markierung der Spenderpolypen vergehen 4 Tage, bis die Differenzierung der markierten Nicht-EMZ soweit abgeschlossen ist, dass sie wanderungsfähig werden. Während des 5. Tages wandern 70–80% aller markierten Nicht-EMZ aus dem Implantat in die verschiedenen Wirtsregionen, vorzugsweise das Hypostom und die Tentakel, ein.

6. Da weder im Entoderm der Wirtspolypen noch in den Gastralhöhlen der Chirmären markierte Zellen angetroffen wurden, muss die individuelle Wanderung von Nicht-EMZ in den interstitiellen Räumen des Rumpfektoderms ablaufen.
7. Weisen Wirtshälften und Implantate die gleiche Axialpolarität auf, so erfolgt die individuelle Wanderung markierter Nicht-EMZ in proximo-distaler Richtung, d.h. die Zellen bewegen sich dem disto-proximalen Gewebefluss (CAMPBELL, 1967*b*) entgegen.
8. Werden die markierten Zellen eines Implantates bezüglich der Axialpolarität der Wirtsteile einer Konfliktsituation ausgesetzt, so lässt sich für die Wanderung innerhalb des Implantates keine Vorzugsrichtung mehr angeben.
9. Es wird diskutiert, ob die Richtung der individuellen Zellwanderung durch die Platzverhältnisse in den interstitiellen Räumen des Rumpfektoderms beeinflusst wird.

SUMMARY

1. The incorporation of ^3H -Thymidin into the cell nucleus of *Hydra attenuata* (Pall.) was analysed at short time intervals.
2. After six days of starvation, the polyps were fed. Immediately afterwards ^3H -Thymidin was injected into the enteron. After the feeding many cells started at the same moment to replicate their DNA.
3. The possibility that the axial distribution of the mitosis was altered by the movement of the labelled cells can be excluded because only five minutes after the injection labelled cells were found distributed over the whole length of the body.
4. Radioactive labelling followed by transplantation was used to follow the time course of the migratory capacity of epithelial cells other than muscle cells (called "Nicht EMZ": nematocytes, interstitial cells = I-cells, possibly also nerve cells).
5. 4 days after ^3H -Thymidin labelling of the donor the differentiation of labelled "Nicht EMZ" reached a point where the cells were able to migrate. After 5 days 70%-80% of all labelled "Nicht EMZ" have moved from the implanted area into the different host regions, particularly into the hypostom and the tentacles.
6. The fact that labelled cells were found neither in the endoderm of the host nor in the enteron of the graft shows that the individual movement of the "Nicht EMZ" takes place in the interstitial space of the ectoderm.
7. If the host and the graft showed an identical axial polarity, then the labelled "Nicht EMZ" move individually in a proximo-distal direction, i.e. the cells are moving against the disto-proximal flow of tissue (Campbell, 1967*b*).

8. If the polarity of the graft is opposite to the axial polarity of the host tissue, then the movement of the labelled cells indicate no preference for any direction.
9. The following question is discussed: Is the direction of movement of individual cells influenced by the amount of room which is available in the interstitial space of the body ectoderm.

RÉSUMÉ

1. L'incorporation de ^3H -thymidine dans le noyau cellulaire de *Hydra attenuata* (Pall.) a été étudiée pendant de courts laps de temps.
2. Après une période de jeûne de 6 jours, on a injecté de la ^3H -thymidine dans la gastrocoele immédiatement après le nourrissage. La prise de nourriture a déclenché, ou rendu possible, au même moment la réplication du matériel génétique de nombreuses cellules.
3. Comme 5 minutes après l'injection apparaissent déjà des cellules marquées le long de tout le corps, il est exclu que la distribution axiale des mitoses soit due à des migrations de cellules marquées.
4. La méthode du marquage radioactif a été combinée avec celle de la transplantation pour découvrir la capacité de migration individuelle des différents types de cellules musculaires non épithéliales (« Nicht EMZ »: nématocystes, cellules interstitielles, éventuellement cellules nerveuses).
5. Il se passe 4 jours après le marquage du polype initial jusqu'à ce que la différenciation des « Nicht-EMZ » marquées soit assez avancée au point qu'elles deviennent capables de se déplacer. Durant le 5^e jour, 70 à 80% de toutes les « Nicht-EMZ » marquées émigrent de l'implantat dans les différentes régions de l'hôte, de préférence en direction de l'hypostome et des tentacules.
6. Comme l'on ne rencontre des cellules marquées ni dans l'endoderme du polype-hôte, ni dans la gastrocoele des chimères, le trajet individuel des « Nicht-EMZ » doit aboutir dans les cavités interstitielles de l'ectoderme du tronc.
7. Si les moitiés hôtes et les implantats montrent la même polarité axiale, le trajet individuel des « Nicht-EMZ » marquées se fait dans une direction proximo-distale, c'est-à-dire que les cellules se meuvent dans le sens opposé à la croissance disto-proximale du tissu (CAMPBELL, 1967b).
8. Si les cellules marquées de l'implantat sont placées dans une situation de conflit en ce qui concerne la polarité axiale des tissus de l'hôte, le mouvement des cellules à l'intérieur de l'implantat n'indique de préférence pour aucune direction.
9. Il a été discuté si la direction du trajet individuel des cellules est influencée par la quantité de lacunes de l'espace interstitiel de l'ectoderme du corps.

LITERATUR

- BAUMANN, P. A. 1969. *Untersuchungen zum Proteinstoffwechsel bei alternden Adultmännchen, Larven des Wildtyps und der Letalmutanten (ltr und lme) von Drosophila melanogaster*. Z. vergl. Physiol. 64: 212—242.
- BRIEN, P. 1949. *La croissance, la blastogénèse, l'ovogénèse chez Hydra fusca (Pallas)*. Bull. biol. Fr. Belg. 83: 293-386.
- BURNETT, A. L. 1960a. *Growth pattern in green Hydra, Chlorohydra*. Science 131: 160.
- 1960b. *The nematocysts of Hydra. III. The migration pathway of nematocysts in Hydra*. Ann. Soc. r. zool. Belg. 90: 281-294.
- 1962. *Method of introducing tritiated thymidine into the tissue of Hydra*. Science 138: 825-826.
- 1966. *A model of growth and cell differentiation in Hydra*. Am. Nat. 100: 165-189.
- CAMPBELL, R. D. 1965. *Cell proliferation in Hydra: An autoradiographic approach*. Science 148: 1231-1232.
- 1967a. *Tissue dynamics of steady state growth in Hydra littoralis. I. Patterns of Cell division*. Devl. Biol. 15: 487-502.
- 1967b. *II. Patterns of tissue movement*. J. Morph. 121: 19-28.
- 1967c. *III. Behavior of specific cell types during tissue movements*. J. exp. Zool. 164: 379-392.
- CLEAVER, J. E. 1967. *Thymidine metabolism and cell kinetics*. North Holland Publ. Co., Amsterdam, 1967.
- HADZI, J. 1909. *Über die Nesselzellwanderung bei den Hydroidpolypen*. Arb. Zool. Inst. Univ. Wien 17: 56-95.
- KOLENKINE, X. 1963. *Incorporation de thymidine tritiée chez Hydra attenuata normale et en cours de régénération*. C. r. hebod. Séanc. Acad. Sci., Paris, 256: 1381-1384.
- LOOMIS, W. F. 1956. *Growth and sexual differentiation of Hydra in mass culture*. J. exp. Zool. 132: 555-574.
- RICH, F. und P. TARDENT. 1969. *Untersuchungen zur Nematocyten-Differenzierung bei Hydra attenuata (Pall.)*. Rev. suisse Zool. 76: 779-787.
- RÖGERS, A. W. 1967. *Techniques of autoradiography*. Elsevier Publ. Co. Amsterdam.
- SANYAL, S. 1962. *Cellular source in hydroid regeneration*. Experientia 18: 449-450.
- TARDENT, P. 1960. *Principles governing the process of regeneration in hydroids*. In: *Developing cell systems*, ed. D. RUDNICK, New York.
- 1968. *Experiments about sex determination in Hydra attenuata (Pall.)*. Devl. Biol. 17: 483-511.
- und H. EYMANN. 1959. *Experimentelle Untersuchungen über den regenerationshemmenden Faktor von Tubularia*. Arch. Entw. Mech. Org. 151: 1-37.
- TARDENT, P. und U. MORGENTHALER. 1966. *Autoradiographische Untersuchungen zum Problem der Zellwanderung bei Hydra attenuata (Pall.)*. Rev. suisse Zool. 73: 468-480.

